昆虫病原线虫斯氏线虫和异小杆线虫对长角血蜱雌蜱的致病力

高志华[1]，杨小龙[1]，刘敬泽[1*]，简　恒[2]

（1. 河北师范大学生命科学学院，石家庄　050016；2. 中国农业科学院生物防治研究所，北京　100081）

摘要： 用昆虫病原线虫小卷蛾斯氏线虫（Sc BJ）、夜蛾斯氏线虫（Sf Otio）、拟双角斯氏线虫（Sc D43）、格氏斯氏线虫（Sg NC32）和嗜菌异小杆线虫（Hb E-6-7）对长角血蜱雌蜱进行感染试验，所用线虫剂量为 4 000 IJs/dish。结果表明，5 种线虫均对长角血蜱雌蜱有致死效应。Hb E-6-7 和 Sc BJ 两种线虫对雌蜱各发育期致病力最强，导致雌蜱的累积死亡率和半致死时间分别为饥饿雌蜱 82.5%，9.0 天和 75.0%，8.8 天；吸血雌蜱 90.0%，8.0 天和 82.5%，8.0 天；饱血雌蜱 93.3%，7.3 天和 86.7%，7.3 天。Sc D43 对饱血雌蜱有较高的致死效应，为 80.0%，但半致死时间较长，为 11.7 天。Sf Otio 和 Sg NC32 对长角血蜱雌蜱的致死效应较低。饱血雌蜱较饥饿雌蜱和吸血雌蜱更易被线虫感染。

关键词： 昆虫病原线虫；斯氏线虫；异小杆线虫；长角血蜱；致病力

中图分类号： Q965　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 0454-6296(2004)01-0020-05

Virulence of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) to female ticks of *Haemaphysalis longicornis* Neumann (Acari: Ixodidae)

GAO Zhi-Hua[1], YANG Xiao-Long[1], LIU Jing-Ze[1*], JIAN Heng[2] (1. College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang　050016, China; 2. Institute of Biological Control, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing　100081, China)

Abstract: Infection of entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* BJ (Sc BJ), *S. feltiae* Otio (Sf Otio), *S. ceratophorum* D43 (Sc D43) and *S. glaseri* NC32 (Sg NC32) (Steinernematidae), and *Heterorhabditis bacteriophora* E-6-7 (Hb E-6-7) (Heterorhabditidae) to female *Haemaphysalis longicornis* Neumann was conducted. The nematodes dosage used was 4 000 IJs/dish. The results showed that the five entomopathogenic nematodes had lethal effects on female *H. longicornis*. Hb E-6-7 and Sc BJ were the most virulence species to various developmental stages of female ticks: the cumulative mortality and the LT_{50} of unfed female ticks from nematodes infection were 82.5%, 9.0 d and 75.0%, 8.8 d, respectively; feeding female 90.0%, 8.0 d and 82.5%, 8.0 d; engorged female 93.3%, 7.3 d and 86.7%, 7.3 d. Sc D43 infection also caused high mortality (80.0%) to engorged female ticks, but the LT_{50} was relatively long (11.7 d). Lethal effects of Sf Otio and Sg NC32 to this tick were low. Engorged female ticks were more sensitive than unfed and feeding female ticks.

Key words: Entomopathogenic nematodes; steinernematid; heterorhabditid; *Haemaphysalis longicornis*; virulence

昆虫病原线虫是害虫的天敌，已成为害虫生物防治中的一个重要类群。其中斯氏线虫属 *Steinernema* Tracassos 和异小杆线虫属 *Heterorhabditis* Poinar 在害虫生物防治中的潜能日益受到重视，它们分别携带共生菌 *Xenorhabdus* spp. 和 *Photorhabdus* spp. (Kaya and Gaugler, 1993; Georgis and Manweiler, 1994; Martin, 1997)。当线虫自由活动的第 3 龄侵染期幼虫（infective juveniles, IJs）遇到合适的宿主后，通过酶解和机械作用进入害虫体腔（Abuhatab *et al.*, 1995），释放共生菌（Forst *et al.*, 1997）而杀死靶标害

基金项目：河北省自然科学基金项目(300168)；河北省人事厅国际合作与交流中心资助项目

作者简介：高志华，女，1977 年 9 月生，河北鹿泉人，硕士，研究方向为动物生态学，E-mail: gaozhihua77@sina.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: jzliu21@heinfo.net

收稿日期 Received: 2003-04-24; 接受日期 Accepted: 2003-07-07

虫。在害虫体内，线虫以快速繁殖的共生菌为食，逐渐成熟、交配、产生更多的侵染期幼虫。

有关昆虫病原线虫与昆虫关系的研究较多，某些种类已成功地用于防治害虫，部分线虫已商品化。但昆虫病原线虫对蜱的作用则了解甚少。已报道环形牛蜱 *Boophilus annulatus*（Say）对线虫有高的敏感性（Samish and Glazer，1991），但微小牛蜱 *B. microplus*（Ganestrini）和彩饰花蜱 *Amblyomma variegatum*（F.）无效应（Mauleon *et al.*，1993）。肩突硬蜱 *Ixodes scapularis*（Say）对斯氏线虫有很强的敏感性（Zhioua *et al.*，1995；Hill，1998）。上述研究表明，某些昆虫病原线虫对蜱有致死效应，且因蜱的种类和线虫种类或品系而不同。

长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis* Neumann 分布广泛，是重要的媒介蜱种。该蜱为瑟氏泰勒虫 *Theileria sergenti* 等疾病的传播媒介，引起宿主高热、出血、消瘦和体表淋巴结肿胀等症状（邓国藩和姜在阶，1991）。我们首次以从中国分离的 3 种昆虫病原线虫和国外分离的 2 种线虫对其进行感染试验，以阐明线虫是否对长角血蜱雌蜱有致死效应，如有致死效应，则蜱敏感的线虫种类和敏感期差异如何，以期为探讨昆虫病原线虫与蜱的关系及开展蜱的生物治理提供依据。

1　材料和方法

1.1　蜱的来源与喂养

长角血蜱吸血若虫采自河北省小五台山国家自然保护区杨家坪管理区羊体（1998～2002 年），在（26±1）℃，RH 75%，光周期 6L∶18D 光照培养箱中培养。饥饿的幼虫、若虫和成虫均在兔耳上饱血，饱血后放入光照培养箱中。取不同发育阶段的雌蜱（饥饿期、吸血期、饱血后）用于线虫的侵染试验。

1.2　昆虫病原线虫

试验所用线虫为小卷蛾斯氏线虫 *Steinernema carpocapsae* BJ（Sc BJ）（中国北京）、拟双角斯氏线虫 *S. ceratophorum* D43（Sc D43）（中国辽宁）、嗜菌异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora* E-6-7（Hb E-6-7）（中国吉林省）、格氏斯氏线虫 *S. glaseri* NC32（Sg NC32）（美国卡罗来纳州）和夜蛾斯氏线虫 *S. feltiae* Otio（Sf Otio）（澳大利亚塔斯马尼亚州）。所有线虫均在大蜡螟 *Galleria mellonelea* 最后一龄幼虫中繁育，所得线虫第 3 龄幼虫贮存在有湿海绵的塑料袋中存放（10℃），感染前 26℃ 放置 24 h 用于侵染蜱的试验。

1.3　侵染试验

将湿海绵中储存的 5 种线虫用蒸馏水稀释成浓度为 8 000 IJs/mL（IJs 为感染期幼虫）的线虫悬浮液，接种 0.5 mL 该悬浮液于铺有滤纸的培养皿（直径 6 cm）中（4 000 IJs/dish），对照组处理用 0.5 mL 蒸馏水代替。将 5 个饱血雌蜱、10 个饥饿雌蜱和 10 个吸血雌蜱分别放入不同培养皿，每个处理设 4 次重复。在 26℃恒温培养箱中黑暗培养，每天观察蜱的死亡率。侵染过程中适当补充少量蒸馏水，以维持培养皿中的湿度。

1.4　数据处理

所有数据均用 Statistica 统计软件进行统计分析，并作图。

2　结果

2.1　线虫对饥饿雌蜱的致死效应

由表 1、图 1 可知，异小杆线虫 Hb E-6-7 和斯氏线虫 Sc BJ 对长角血蜱饥饿雌蜱的致死率最高，感染 14 天后导致的累积死亡率分别为 82.5% 和 75.0%，与其他 3 种线虫及对照差异极显著（$P < 0.001$）。Hb E-6-7 和斯氏线虫 Sc BJ 的半致死时间分别为 9.0 天和 8.8 天。其他 3 种线虫的致死率较低，均未达到半数死亡，三者间无显著差异（$P > 0.05$）。

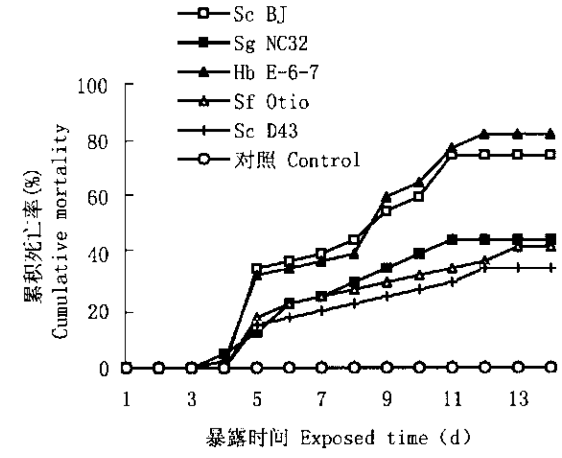


图 1　5 种线虫对长角血蜱饥饿雌蜱的致死率

Fig. 1　Mortality of unfed female *H. longicornis* exposed to five nematode species for 14 days

2.2　线虫对吸血雌蜱的致死效应

受线虫 Sc BJ 感染的吸血雌蜱在感染后 6 天开始出现死亡个体，感染后 8 天死亡率为 50%（LT_{50} = 8.0 天），14 天的累积死亡率为 82.5%；暴露到 Hb

E-6-7 中的吸血雌蜱在感染后 7 天出现死亡个体，感染后 8 天达半数死亡(LT_{50} = 8.0 天)，14 天的累积死亡率为 90.0%；线虫 Sg NC32、Sf Otio 和 Sc D43 对吸血雌蜱的致死率低，分别为 40.0%、47.5% 和 42.5%，显著低于前两个种(P < 0.01)(表 1、图 2)。

表 1 侵染 14 天后不同线虫对长角血蜱雌蜱的致死效应

Table 1 Lethal effects of various nematodes to female *H. longicornis* for 14 days (mean ± *SE*)

线虫种类 Nematode species	饥饿雌蜱 Unfed female		吸血雌蜱 Feeding female		饱血雌蜱 Engorged female	
	死亡率 Mortality(%)	LT_{50}(d)	死亡率 Mortality(%)	LT_{50}(d)	死亡率 Mortality(%)	LT_{50}(d)
Sc BJ	75.0 ± 2.9 a	8.8	82.5 ± 2.5 a	8.0	86.7 ± 6.7 a	7.3
Sg NC32	45.0 ± 6.5 b	–	40.0 ± 4.1 b	–	46.7 ± 6.7 b	–
Hb E-6-7	82.5 ± 7.5 a	9.0	90.0 ± 4.1 a	8.0	93.3 ± 6.7 a	7.3
Sf Otio	42.5 ± 2.5 b	–	47.5 ± 2.5 b	–	53.3 ± 6.7 b	–
Sc D43	35.0 ± 2.9 b	–	42.5 ± 2.5 b	–	80.0 ± 11.6 ab	11.7
对照 Control	00.0 ± 0.0 c	–	00.0 ± 0.0 c	–	00.0 ± 0.0 c	–

字母相同者无显著差异，字母不相同者有显著性差异 Numbers followed by the same letters do not differ significantly(P > 0.05); those followed by different letters are statistically different(P < 0.05). LT_{50}：达 50%死亡率所需的时间 Time needed for 50% mortality; "–"：未达 50%死亡率 Not reaching 50% mortality.

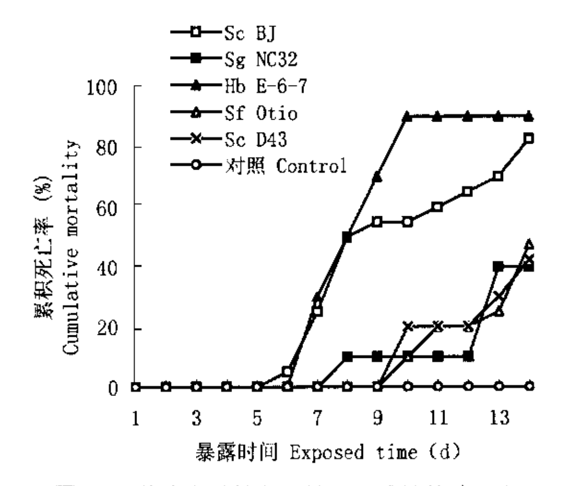


图 2 5 种线虫对长角血蜱吸血雌蜱的致死率

Fig. 2 Mortality of feeding female *H. longicornis* exposed to five nematode species for 14 days

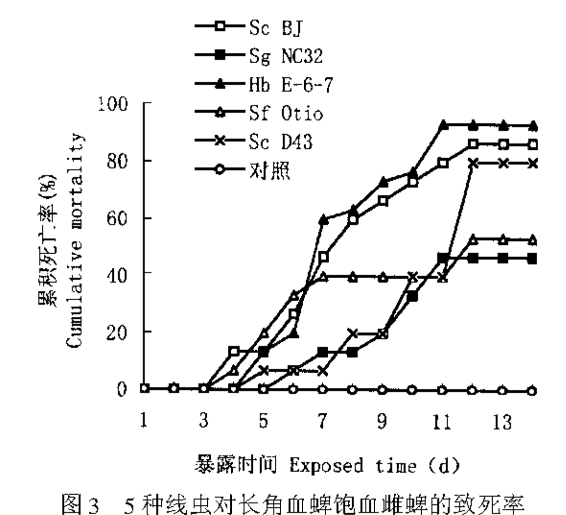


图 3 5 种线虫对长角血蜱饱血雌蜱的致死率

Fig. 3 Mortality of engorged female *H. longicornis* exposed to five nematode species for 14 days

2.3 线虫对饱血雌蜱的致死效应

Hb E-6-7、Sc BJ 和 Sc D43 对饱血雌蜱有明显的致死效应，14 天的累积死亡率分别为 93.3%、86.7%和 80.0%，显著高于 Sg NC32、Sf Otio 及对照(P < 0.01)；Sc D43 的致死率与前两个种类差异显著(P < 0.05)。Hb E-6-7 和 Sc BJ 的半致死时间均为 7.3 天，但 Sc D43 的半致死时间明显较前两种线虫长(LT_{50} = 11.7 天，P < 0.01)；线虫 Sg NC32 和 Sf Otio 的致死率较低，分别为 46.7%和 53.3%(表 1、图 3)。

3 讨论

研究表明，5 种线虫对长角血蜱雌蜱均有致死效应，其中异小杆线虫 Hb E-6-7 和斯氏线虫 Sc BJ 致死率最高，感染 14 天后导致雌蜱高的死亡率，饥饿雌蜱分别为 82.5%和 75.0%，吸血雌蜱分别为 90.0%和 82.5%，饱血雌蜱分别为 93.3%和 86.7%，且半致死时间明显低于其他种类，说明 Hb E-6-7 和 Sc BJ 是长角血蜱雌蜱最敏感的种类。虽然 Sc D43 也导致雌蜱高的死亡率，但半致死时间较长(11.7 天)。其他两种线虫有低的致死效应。Lewis

等(1993)提出，不同种类或品系的线虫对同一寄主的毒力不同，可能是由于昆虫病原线虫搜寻寄主的特性不同所致。而本试验在培养皿中进行，线虫和蜱很接近，所以线虫搜寻寄主的特性对线虫毒力的影响可能不大。在昆虫中影响线虫毒力的因素有：线虫的侵染力和进入寄主血淋巴的线虫共生菌(Glazer，1992；Ricci *et al*.，1996)；线虫在寄主体内的繁殖率；寄主对线虫共生菌及其毒性分泌物的免疫防御(Wang and Bedding，1996)。据报道，不同线虫种类或品系对美洲花蜱 *A*. *americanum* (Kocan *et al*.，1998)、肩突硬蜱(Zhioua *et al*.，1995；Hill，1998)和环形牛蜱(Samish and Glazer，1992；Mauleon *et al*.，1993)的致死率也表现出明显不同。在防治害虫的研究中发现，不同线虫种类或品系对同一昆虫寄主的致死作用明显不同(Caroli *et al*.，1996；Ricci *et al*.，1996)，如斯氏线虫 *S*. *carpocapsae* Agriotos 和 Sc BJ 对白杨透翅蛾 *Paranthrene tabaniformis* 的侵染力较强，而线虫 Sf Otio 的作用效果较差(潘洪玉等，1997)；线虫 Sc BJ 对东北黑鳃金龟子幼虫防效很差，而线虫 *S*. *glaseri* NC52 和 *H*. *bacteriophora* 15-2 的致病力较强(郝德军等，2001)。

长角血蜱饱血雌蜱较易被线虫感染，表现在有高的死亡率和较短的半致死时间。雌蜱饱血后，体积显著增大，体内绝大部分是从寄主吸食的血液，这可能会引起雌蜱身体结构和体内环境的变化。蜱的大量吸血可引起血淋巴组成成分的变化(Soneshine，1991)，也会使蜱角质层厚度和可塑性发生变化(Okura *et al*.，1997)。另外，线虫的损伤作用可能破坏中肠，使蜱中肠中的大量血液和血淋巴混合，引起血淋巴成分的变化。饱血雌蜱角质层厚度和可塑性的变化可能有利于昆虫病原线虫的侵入；血淋巴成分的变化可能较其他时期成虫更适于昆虫病原线虫及其共生菌的生存和繁殖。肩突硬蜱(Zhioua *et al*.，1995)和环形牛蜱(Samish and Glazer，1992)，也是饱血雌蜱对线虫较敏感，但血红扇头蜱 *Rhipicephalus sanguineus* 饱血雌蜱对线虫的敏感性与饥饿成蜱无明显差异，囊形扇头蜱 *R*. *bursa* 饥饿雌蜱较饱血雌蜱易被线虫感染(Samish *et al*.，1999)，原因有待进一步探讨。

利用昆虫病原线虫防治昆虫的研究显示，不同发育阶段的昆虫对昆虫病原线虫的易感性也有显著不同，如棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的 1 龄幼虫对线虫最敏感(Glazer and Navon，1990)；鞘翅目一种玛绒金龟子 *Maladera matrida* 末龄幼虫对昆虫病原线虫最敏感(Glazer and Gol'berg，1989)；双翅目的两种大蚊 *Tipula paludosa* 和 *T*. *oleracea* 对线虫的最敏感期为接近第一次蜕皮的 1 龄幼虫，而早期的 1 龄幼虫的易感性相对较差(Peter and Ehler，1994)；色卷蛾 *Choristoneura rosaceana* 3 龄幼虫对昆虫病原线虫的敏感性较高于 4 龄、5 龄和 6 龄幼虫(Belair *et al*.，1999)。寄主在不同发育阶段，无论是身体结构还是体内环境都存在明显不同，致使对昆虫病原线虫的抵抗能力不同，不同程度地影响昆虫病原线虫的侵入和线虫及其共生菌在寄主体内的繁殖。

作者首次利用从我国分离的 3 种线虫和国外分离的 2 种线虫对广泛分布于我国的长角血蜱进行感染试验，证明产于我国本土的 Hb E-6-7 和 Sc BJ 有明显的致死效应，但研究结果只是初步的，许多问题尚不清楚，如不同浓度线虫对长角血蜱的致死效应、线虫对蜱侵染的野外试验研究、线虫对蜱的侵袭机理以及更有效线虫的筛选等。

参 考 文 献(References)

Abuhatab M，Selvan S，Gaugler R，1995. Role of proteases in penetration of insect gut by the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae). *J*. *Invertebr*. *Pathol*.，66: 125 – 130.

Belair G，Vincent C，Lemire S，Coderre D，1999. Laboratory and field assays with entomopathogenic nematodes for the management of oblique banded leafroller *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Tortricidae). *J*. *Nematol*.，31 (4S): 648 – 689.

Caroli L，Glazer I，Gaugler R，1996. Entomopathogenic nematodes infectivity assay—comparison of penetration rate into different hosts. *Biocontrol Sci*. *Technol*.，6: 227 – 233.

Deng GF，Jiang ZJ，1991. Economic Insect Fauna of China. Fasc 39. Acari: Ixodidae. Beijing: Science Press. 18 – 19.［邓国藩，姜在阶，1991. 中国经济昆虫志 第三十九册 蜱螨亚纲 硬蜱科. 北京：科学出版社. 18 – 19］

Forst S，Dowds B，Boemare N，Stackebrandt E，1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. *Annu*. *Rev*. *Microbiol*.，51: 47 – 72.

Georgis R，Manweliler SA，1994. Entomopathogenic nematodes: a developing biocontrol technology. In: Evans K ed. Agricultural Zoology Reviews. Andover: Intercept，Holland. 63 – 94.

Glazer I，1992. Invasion rate as a measure of infectivity of steinernematid and heterorhabditid nematodes to insects. *J*. *Invertebr*. *Pathol*.，59: 90 – 94.

Glazer I，Gol'berg A，1989. Laboratory evaluation of steinernematid and heterorhabditid nematodes for control of the beetle *Maladera matrida*. *Phytoparasitica*，17: 3 – 11.

Glazer I，Navon A，1990. Activity and persistence of entomoparasitic nematodes tests against *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J*. *Econ*. *Entomol*.，83: 1 795 – 1 800.

Hao DJ，Zhang HL，Sun JB，2001. Determination of foxicity of entomopatho-

genic nematode against the larvae of *Holotrichia diomphalia*. *Forestry Sci*. *Technol*.,26(2): 22 – 23.[郝德军,张海林,孙家宝,2001. 几种昆虫病原线虫对苗圃地下害虫的毒力测定. 林业科技,26(2): 22 – 23]

Hill DE,1998. Entomopathogenic nematodes as control agents of developmental stages of the black-legged tick,*Ixodes scapularis*. *J. Parasitol*.,84: 1 124 – 1 127.

Kaya HK,Gaugler R,1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol*.,38: 181 – 206.

Kocan KM,Blouin EF,Pidherney MS,Claypool PL,Samish M,Glazer I,1998. Entomopathogenic nematodes as a potential biological control method for ticks. *Ann*. *N*. *Y*. *Acad*. *Sci*.,849: 355 – 356.

Lewis EE,Gaugler R,Harrision R,1993. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. *Can*. *J*. *Zool*.,71: 765 – 769.

Martin WRJ,1997. Using entomopathogenic nematodes to control insects during stand establishment. *Hortic*. *Sci*.,32: 196 – 200.

Mauleon H,Barre N,Panoma S,1993. Pathogenicity of 17 isolates of entomophagous nematode (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius),*Boophilus microplus* (Canestrini) and *Boophilus annulatus* (Say). *Exp*. *Appl*. *Acarol*.,17: 831 – 838.

Okura N,Koga K,Mori T,Shiraishi S,1997. Morphological changes in soft integument during feeding of adult female *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). *J*. *Acarol*. *Soc*. *Jpn*.,6: 33 – 41.

Pan HY,Zhang H,Ding L,Yang J,Liu B,Zhang XT,1997. Study on the control of entomopathogenic nematode against poplar clearwing(*Paranthrene tabaniformis*). *Natural Enemies Insects*,19(1): 1 – 5. [潘洪玉,张浩,丁利,杨军,刘波,张希堂,1997. 昆虫病原线虫对白杨透翅蛾控制作用的研究. 昆虫天敌,19(1): 1 – 5]

Peter A,Ehler RU,1994. Susceptibility of leatherjackets (*Tipula paludosa* and *T*. *oleracea*; Tipuladae; Nematocera) to entomopathogenic nematode *Steinernema fetiae*. *J*. *Invertebr*. *Pathol*.,63: 163 – 171.

Ricci M,Glazer I,Gaugler R,1996. Entomopathogenic nematodes infectivity assay: comparison of laboratory bioassays. *Sci*. *Technol*.,6: 235 – 245.

Samish M,Alekseev E,Glazer I,1999. Interaction between ticks (Acari: Ixodidae) and pathogenic nematodes (Nematoda): susceptibility of tick species at various developmental stages. *J*. *Med*. *Entomol*.,36(6): 733 – 740.

Samish M,Glazer I,1991. Killing ticks with parasitic nematodes of insects. *J*. *Invertebr*. *Pathol*.,58: 281 – 282.

Samish M,Glazer I,1992. Infectivity of the entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) to female ticks of *Boophilus annulatus* (Arachnida: Ixododae). *J*. *Med*. *Entomol*.,29: 614 – 618.

Sonenshine DE,1991. Biology of Ticks. New York: Oxford University Press. 1 – 447.

Wang JX,Bedding RA,1996. Population development of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* in the larvae of *Galleria mellonella*. *Fundamental and Appl*. *Nematol*.,19: 363 – 367.

Zhioua E,Lebrun RA,Ginsberg HS,Aeschlimann A,1995. Pathogenecity of *Steinernema carpocapsae* and *S*. *glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J*. *Med*. *Entomol*.,32: 900 – 905.

(责任编辑: 黄玲巧)